Aus dem Zentralinstitut für Anaesthesiologie und Transfusionswesen
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. R. Schorer

Messung von Äthan in der Ausatemluft als Produkt der Lipidperoxidation unter Alkoholbelastung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
Gerhard Schneider
aus Sindelfingen

1983

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543903_0107

Aus dem Zentralinstitut für Anaesthesiologie und Transfusionswesen
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. R. Schorer

Messung von Äthan in der Ausatemluft als Produkt der Lipidperoxidation unter Alkoholbelastung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
Gerhard Schneider
aus Sindelfingen

1983

Dekan:	Professor Dr. W. Frommhold
1. Berichterstatter:	Professor Dr. V. Hempel
2. Berichterstatter:	Professor Dr. W. Heller

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

REFO-DRUCK HANS VOGLER TÜBINGEN

Für die Überlassung des Themas und für zahlreiche wertvolle Ratschläge danke ich Herrn Professor Dr. V. Hempel, Zentralinstitut für Anaesthesiologie und Transfusionsmedizin der Universität Tübingen.

Mein Dank gilt auch Herrn Professor Dr. M. Staak vom Institut für Gerichtliche Medizin der Universität Tübingen, der sich freundlicherweise bereiterklärte, den Blutalkoholspiegel meiner Probanden zu bestimmen.

In diesem Zusammenhang möchte ich mich auch bei Frl. Leibfried bedanken, die diese Bestimmungen durchführte, ebenso bei Frl. Kommerell, die mir bei den gaschromatographischen Untersuchungen der Exspirationsluft meiner Probanden behilflich war.

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Einleitung	1
2.	Material und Methode	9
2.1	Material	9
2.1.1	Untersuchungsgut	9
2.1.2	Verwendete Materialien und Geräte	10
2.1.2.1	Alkoholisches Getränk	10
2.1.2.2	Behälter zum Sammeln der Exspirationsluft	10
2.1.2.3	Venülen zur Blutentnahme	10
2.1.2.4	Vorsäulen	10
2.1.2.5	Gaschromatograph, Trennsäule und Integrator	11
2.1.2.5.1	Gaschromatograph (GC)	11
2.1.2.5.2	Trennsäule	12
2.1.2.5.3	Integrator	12
2.1.2.6	Pumpe	12
2.1.2.7	Gase	12
2.1.2.7.1	Stickstoff	12
2.1.2.7.2	Gase für den FID	13
2.1.2.7.3	Gasgemische zur Herstellung von Eichgasen	13
2.1.2.7.4	Äthan-Stickstoff-Gemisch	13
2.1.2.7.5	Sauerstoff	13
2.2.	Methode	14
2.2.1	Gaschromatographische Bedingungen	14
2.2.1.1	Gaschromatograph	14
2.2.1.2	Gase	14
2.2.1.3	Ölbad	14
2.2.2	Einstellungen des Integrators	14
2.2.3	Durchführung der Äthanmessung	15
2.2.4	Rückspülvorgang	15
2.2.5	Reinigung der Vorsäulen	15
2.2.6	Reinigung der Plastigas-Leerbeutel	16
2.2.7	Ermittlung der Retentionszeit des Äthans	16

		Seite
2.2.8	Erstellen der Eichkurven	17
2.2.9	Durchführung der Untersuchungen	18
2.2.9.1	Vorbereitung der Probanden	18
2.2.9.2	Kontrolluntersuchungen	18
2.2.9.3	Trinkversuche	19
2.2.10	Bestimmung des Blutalkoholspiegels	20
3.	Ergebnisse	21
3.1	Eichungen	21
3.1.1	Kontrolluntersuchungen	21
3.1.2	Trinkversuche	24
3.2	Kontrolluntersuchungen	27
3.3	Trinkversuche	35
4.	Diskussion	41
5.	Zusammenfassung	45
6.	Literaturverzeichnis	46
7.	Anhang	51

1. Einleitung

Exzessiver Alkoholkonsum und pathologische Veränderungen der Leber werden nicht erst in neuerer Zeit miteinander in Verbindung gebracht. So erwähnte z.B. der englische Arzt Heberden (1802), daß ein unmäßiger Genuß geistiger Getränke der häufigste Grund für eine Leberschädigung sei, und Rokitansky fand 1842, daß zwischen gesteigerter Alkoholzufuhr und dem Auftreten einer Leberverfettung ein Zusammenhang besteht.

Heute gilt als gesichert, daß die Akkumulation von Triglyceriden in den Hepatocyten das erste Anzeichen einer alkoholisch bedingten Leberschädigung darstellt (Porta, Hartroft and De La Iglesia, 1967; Rubin and Lieber, 1972).

Gleichzeitig mit dieser Verfettung laufen auf subcellulärer Ebene zahlreiche Veränderungen ab. So findet man beispielsweise eine Größenzunahme der Mitochondrien, deren Membranen schließlich zerreißen und sich auflösen; das endoplasmatische Reticulum verliert seine übliche Anordnung und der Golgi-Apparat wird hyperplastisch (Porta and Hartroft, 1965; Rubin and Lieber, 1972).

Einen wesentlichen Beitrag zum Verständnis der diese Veränderungen induzierenden molekularen Vorgänge lieferten vor allem die Arbeiten von Tappel und Zalkin (1959), Zalkin und Tappel (1960) und von Di Luzio (1963). Tappel und Zalkin fanden nämlich in den beiden zuvor erwähnten Untersuchungen, daß Vitamin E, ein fettlösliches Antioxidans, ungesättigte Fettsäuren vor oxidativem Umbau schützt, d.h. eine Peroxidation dieser Lipide verhindert, und Di Luzio stellte fest, daß die parenterale Gabe fettlöslicher Antioxidantien, jeweils in Abhängigkeit von der Art des Antioxidans, den Schweregrad einer durch akute Alkoholingestion induzierten Leberverfettung entweder herabsetzt oder das Auftreten einer Leberverfettung überhaupt verhindert.

Tappel und Zalkin kamen auf Grund ihrer Ergebnisse und der bereits bestehenden Hypothese, daß die Funktion eines Antioxidans in der Neutralisation freier Radikale bestehen müs-

se (Dam, 1957), zu dem Schluß, daß Vitamin E eine Lipidperoxidation durch Reaktion mit Lipoperoxiden und freien Radikalen, die als Zwischenprodukte der Lipidperoxidation auftreten, verhindert.

Di Luzio folgerte aus den in seiner Untersuchung gewonnenen Ergebnissen, die durch zahlreiche weitere Arbeiten bestätigt werden konnten (Di Luzio and Costales, 1965; Di Luzio, 1966, 1967; Di Luzio and Hartman, 1967), daß die Wirkung von Antioxidantien im Zusammenhang mit Äthanolingestion darin begründet sein müsse, einen Angriff äthanolinduzierter freier Radikale auf ungesättigte Fettsäuren zu verhindern, d.h. die Funktion eines Radikalfängers auszuüben. Die konsequente Fortsetzung dieser Überlegungen führte ihn dann zu der Hypothese, daß als ursächlicher Faktor für die Entstehung einer sowohl durch Äthanol als auch durch andere chemische Substanzen, z.B. Tetrachlorkohlenstoff, verursachten Verfettung der Leber die Peroxidation mehrfach-ungesättigter Fettsäuren anzusehen sei.

Diese Hypothese fand beträchtliche Unterstützung durch die Tatsache, daß sowohl nach Verabreichung von Äthanol an Ratten mit anschließender Untersuchung der Leberhomogenate (Comporti, Hartman and Di Luzio, 1967; Reitz, 1975; Remmer, Albrecht and Kappus, 1977) als auch nach Zugabe von Äthanol zu Leberhomogenaten (Comporti, Hartman and Di Luzio, 1967; Di Luzio and Hartman, 1967) eine gesteigerte Lipidperoxidation anhand einer vermehrten Bildung von Malondialdehyd nachweisbar war.

Ganz im Gegensatz hierzu stehen allerdings die Ergebnisse von Hashimoto und Recknagel (1968) und Scheig und Klatskin (1969), die nach Äthanolgabe an Ratten weder auf dem Wege des spektrophotometrischen Nachweises einer Dienkonjugation noch mittels der Bestimmung von Malondialdehyd eine gesteigerte Lipidperoxidation aufzeigen konnten.

Den Mechanismus der Peroxidation von Lipiden hat man sich nach Slater (1975) - stark vereinfacht - etwa folgendermaßen vorzustellen: Eine initiale Reaktion - eine Beteili-

gung des Cytochrom P_{450} wird derzeit noch diskutiert - führt zur Bildung eines freien Radikals einer mehrfach-ungesättigten Fettsäure. Die Reaktion dieses Radikals mit Sauerstoff erzeugt ein Peroxy-Radikal. Dieses kann wiederum mit einer mehrfach-ungesättigten Fettsäure reagieren, woraus ein Hydroperoxid und ein weiteres freies Radikal ebendieser mehrfach-ungesättigten Fettsäure resultiert, welches ebenfalls mit Sauerstoff reagieren kann und die Reaktionskette im Sinne einer Autokatalyse fortzusetzen vermag. Ein einfaches Schema (Abb.1) soll das eben Erwähnte nochmals verdeutlichen und auch diverse Möglichkeiten des Kettenabbruchs aufzeigen:

1. Initiale Reaktion

   $MUFS(H) + R\bullet \longrightarrow MUFS\bullet + RH$

2. Weiterführende Reaktionen

   a) $MUFS\bullet + O_2 \longrightarrow MUFSO_2\bullet$ (Peroxy-Radikal)

   b) $MUFSO_2\bullet + MUFS(H) \longrightarrow MUFSO_2H$ (Hydroperoxid) $+ MUFS\bullet$

3. Kettenabbruchsreaktionen

   a) $2\ MUFS\bullet$
   b) $2\ R\bullet$
   c) $MUFS\bullet + MUFSO_2\bullet$
   d) $2\ MUFSO_2\bullet$
   e) $MUFS\bullet + S$
   f) $MUFSO_2\bullet + S$
   g) $R\bullet + S$

Abb. 1: Schematische Darstellung der Reaktionsabläufe bei der Peroxidation mehrfach-ungesättigter Fettsäuren = MUFS(H) und verschiedener Kettenabbruchsreaktionen (modifiziert nach Slater)
R• = freies Radikal
S = Radikalfänger

Da sich die Lipidperoxidation in der Zelle hauptsächlich an den zu einem hohen Prozentsatz aus mehrfach-ungesättigten Fettsäuren aufgebauten Biomembranen (Fleischer and Rouser, 1965) - insbesondere der verschiedenen Zellorganellen - abspielt (Tappel, 1975; Mead, 1976), läßt sich unschwer vorstellen, daß eine derartige peroxidative Umwandlung mehrfach-ungesättigter Fettsäuren die hochorganisierte Struktur dieser Biomembranen zerstören und damit auch metabolische Prozesse, die an eine intakte Struktur dieser Membranen gebunden sind, empfindlich beeinträchtigen kann.

Der Nachweis bzw. die quantitative Bestimmung der Intensität der Lipidperoxidation läßt sich mittels mehrerer Methoden führen:

Eine der wohl am häufigsten verwendete, im Schrifttum allgemein als TBA-Reaktion bezeichnete Methode beruht auf dem photometrischen Nachweis der Reaktion von Thiobarbitursäure mit in Gewebshomogenaten befindlichem Malondialdehyd, einem Abbauprodukt peroxidierter Lipide (Tappel and Zalkin, 1959; Zalkin and Tappel, 1960; Comporti, Hartman and Di Luzio, 1967; Di Luzio and Hartman, 1969; Remmer, Albrecht and Kappus, 1977).

Als weitere, nicht unbedeutende Methode zum Nachweis bzw. zur quantitativen Bestimmung der Lipidperoxidation, die einhergeht mit einer Umlagerung von Doppelbindungen in natürlich vorkommenden ungesättigten Fettsäuren, bietet sich die spektralphotometrische Untersuchung von Gewebsextrakten auf konjugierte Diene an (Recknagel and Goshal, 1966; Haase and Dunkley, 1969).

In Gewebsextrakten enthaltene Produkte der Lipidperoxidation lassen sich aber auch fluoreszenzphotometrisch nachweisen. So kann z.B. Malondialdehyd mit einer Anzahl unterschiedlicher Moleküle, die im allgemeinen im Gewebe vorliegen, reagieren und charakteristische Farbstoffe bilden (Chio and Tappel, 1969); oder Malondialdehyd wird metabolisiert und die

Abbauprodukte erzeugen bei Reaktion mit Proteinen ebenfalls Farbstoffe (Shin, Huggins and Carraway, 1972).

Bunyan et al. (1967) beschrieben eine Methode, mittels derer aus Geweben extrahierte peroxidierte Lipide iodimetrisch bestimmt werden können.

Lieberman und Hochstein (1966) entdeckten, daß bei einer in vitro an Lebermikrosomen von Ratten ablaufenden Lipoperoxidation nicht nur Malondialdehyd, sondern auch Äthylen, eine gasförmige Substanz also, entstand, letzteres allerdings nur bei gleichzeitiger Anwesenheit von Ascorbinsäure und Kupferionen.

Von entscheidender Bedeutung im Hinblick auf die Möglichkeiten eines in-vivo-Nachweises der Lipidperoxidation waren jedoch die Untersuchungen von Riely et al. (1974). Diese Gruppe konnte nämlich einmal zeigen, daß homogenisierte Mäuseleber bei 37° C spontan Lipoperoxide bildete und gleichzeitig Äthan freisetzte. Zum anderen konnte sie nachweisen, daß Mäuse, denen Tetrachlorkohlenstoff injiziert worden war, Äthan produzierten und an ihre Umgebung abatmeten. Aus der Tatsache, daß α - Tocopherol in seiner Eigenschaft als Antioxidans die spontane Lipidperoxidation (bestimmt mit der TBA-Reaktion) zusammen mit der gleichzeitig auftretenden Äthanfreisetzung verhinderte und die durch Tetrachlorkohlenstoff induzierte Äthanproduktion - das Äthan wurde in einem geschlossenen System gesammelt und gaschromatographisch quantifiziert - herabsetzte, schlossen sie, daß zwischen Lipidperoxidation und Bildung des Kohlenwasserstoffes Äthan eine enge Beziehung bestehen müsse.

In-vitro-Untersuchungen von Dumelin und Tappel (1977) ergaben, daß im Rahmen einer Peroxidation ungesättigter Lipide eine größere Anzahl von Kohlenwasserstoffen unterschiedlicher Kettenlänge gebildet wurde, die im übrigen niemals während des eigentlichen Peroxidationsvorganges, sondern stets erst beim Abbau von Fettsäure-Hydroperoxiden auftraten. In ihren gaschromatographisch durchgeführten Ana-

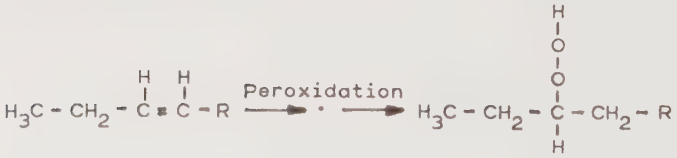
lysen konnten sie neben Gasen wie Methan, Äthylen, Propan, Butan und Hexan in der Hauptsache das aus Hydroperoxiden von ω - 6 - ungesättigten Fettsäuren, z.B. Linolsäure und Arachidonsäure, resultierende Pentan und das aus Hydroperoxiden von ω - 3 - ungesättigten Fettsäuren wie Linolensäure entstehende Äthan nachweisen.

Den Mechanismus einer derartigen Äthanbildung aus peroxidierten Lipiden hat man sich nach Tappel (1978) etwa folgendermaßen vorzustellen:

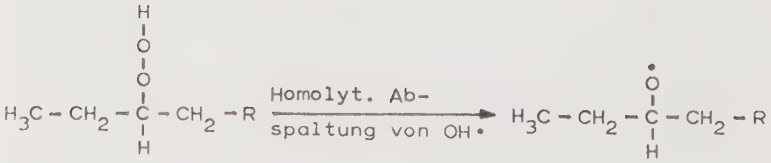
Von der am C-Atom in Position 16 von z.B. Linolensäure befindlichen Hydroperoxidgruppe wird durch homolytische Spaltung ein OH• - Radikal abgespalten, sodaß ein Alkoxy-Radikal verbleibt. Dieses wird nun einer β - Spaltung unterworfen, wobei ein freies Äthan-Radikal entsteht, welches durch Anlagerung von Wasserstoff zu Äthan wird.

Dieser Reaktionsweg sei zum besseren Verständnis nochmals vereinfacht schematisch dargestellt:

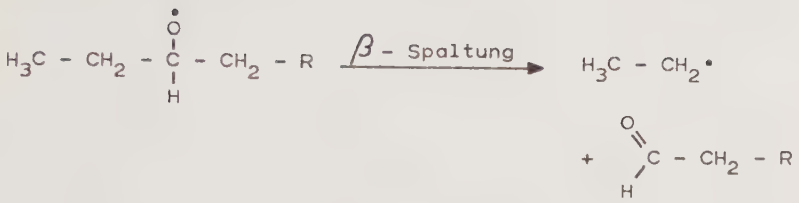
1.



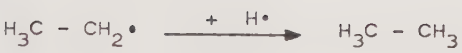
2.

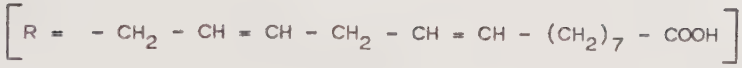


3.



4.





Ausgehend von den schon erwähnten Ergebnissen von Riely et al. (1974) und Dumelin und Tappel (1977) erfolgten in jüngster Zeit unterschiedliche Untersuchungen, die sich des gaschromatographischen Nachweises von Äthan und / oder Pentan in der Exspirationsluft der Versuchstiere als Indikator einer in vivo ablaufenden Lipidperoxidation bedienten.

So konnten beispielsweise Hafeman und Hoekstra zum einen zeigen, daß Substanzen wie Vitamin E, Selen oder Methionin ihre Versuchstiere vor einer durch Tetrachlorkohlenstoff hervorgerufenen Lipidperoxidation schützten, was sich in einem im Vergleich zu den Kontrollen wesentlich niedrigeren Äthangehalt der Exspirationsluft widerspiegelte (1977 a). Zum anderen gelang es ihnen, anhand eines deutlich erhöhten Äthananteils in der Exspirationsluft ihrer Versuchstiere nachzuweisen, daß ein Mangel an Vitamin E bzw. Selen eine starke Zunahme der Lipidperoxidation in vivo induziert (1977 b).

Auch Dillard, Dumelin und Tappel (1977) wiesen anhand eines

erhöhten Spiegels von sowohl Äthan als auch Pentan in der Exspirationsluft von Ratten, die einer Vitamin-E-Mangeldiät ausgesetzt waren, eine gesteigerte Lipidperoxidation in vivo nach.

Schließlich fanden Köster, Albrecht und Kappus (1977) und Köster und Remmer (1977), daß sowohl die Gabe von Tetrachlorkohlenstoff als auch von Äthanol bei den solcherart behandelten Versuchstieren einen deutlichen Anstieg des Äthananteils der Exspirationsluft hervorrief, was von ihnen jeweils auch auf eine erhöhte Lipidperoxidation zurückgeführt wurde.

All diesen oben angeführten in-vivo-Untersuchungen ist gemein, daß sich die Versuchstiere während der gesamten Zeit, in der die Exspirationsluft für die Untersuchung auf Veränderungen des Anteils an Kohlenwasserstoffgasen gesammelt wurde, in einem geschlossenen System befanden. Diese Maßnahme stellte sicher, daß Schwankungen in der Konzentration dieser Gase allein auf einer Änderung der abgeatmeten Äthan- bzw. Pentanmenge beruhten und nicht durch potentiell mögliche äußere Einflüsse bedingt waren.

Die vorliegende Studie hat nun zum Ziel, festzustellen, ob Äthanolingestion auch beim Menschen zu einer gesteigerten Lipidperoxidation führt und mittels eines Anstiegs des Äthangehalts der Exspirationsluft nachgewiesen werden kann und ob derartige Untersuchungen auch in einem offenen System und mit der vorgesehenen Methode durchführbar sind.

2. Material und Methode

2.1 Material

2.1.1 Untersuchungsgut

Die Untersuchung erfolgte ausschließlich an Freiwilligen, in deren Anamnese keine Leberschädigung bekannt war. An den Kontrolluntersuchungen beteiligten sich vier männliche, an den Trinkversuchen ein weiblicher und elf männliche Probanden, wobei sich unter den letzteren wiederum drei Teilnehmer der Kontrollversuche befanden.

Die folgende Tabelle (Tab.1) gibt einen Überblick über einige persönliche Daten der Probanden:

	Probanden												
	1	2	3	4	5^{x}	6^{x}	7	8	9	10^{x}	11	12	13^{xx}
Körpergewicht (in kg)	73	55	75	70	74	72	68	51	71	84	80	95	70
Körpergröße (in cm)	174	166	181	181	182	183	172	164	185	179	180	183	176
Alter (in Jahren)	24	24	24	28	25	26	24	26	24	31	27	27	28
Alkoholkonsum (in g/die)	42	31	21	60	21	21	42	21	42	35	42	50	21
Zigaretten (pro die)	5	-	-	6	20	20	10	12	20	-	-	-	-

Tab.1: Die mit "x" bezeichneten Probanden nahmen sowohl an den Kontroll- als auch an den Trinkversuchen teil, der mit "xx" bezeichnete Proband nur an den Kontrolluntersuchungen.

2.1.2 Verwendete Materialien und Geräte

2.1.2.1 Alkoholisches Getränk

Bei dem im Rahmen der Trinkversuche an die Probanden verabreichten Getränk handelte es sich um einen Fleiner Kirchenweinberg Schwarzriesling Kabinett, Jahrgang 1977, mit einem Alkoholgehalt von 76,4 g/l. Der Zuckergehalt belief sich auf 16,45 g/l, die Gesamtsäure betrug 5,2 g/l. (Diese Daten wurden mir in dankenswerter Weise von der Weingärtnergenossenschaft Flein-Talheim EG zur Verfügung gestellt).

2.1.2.2 Behälter zum Sammeln der Exspirationsluft

Zum Sammeln der Exspirationsluft dienten sogenannte Plastigas-Leerbeutel (Linde, München) mit einem Fassungsvermögen von je 2,5 l. Es handelte sich hierbei um Aluminiumbeutel, deren Außenseite mit einer dünnen Kunststoffschicht überzogen war. Diese Beutel wurden jeweils mit einem Blasenschlauch (Linde, München) und einem daran befestigten, ca. 5 cm langen, weichen Silikonschlauch versehen, auf welchen ein Mundstück aufgesetzt werden konnte und der sich mittels einer Péan-Klemme luftdicht verschließen ließ.

2.1.2.3 Venülen zur Blutentnahme

Die Blutentnahme zur Blutalkoholbestimmung erfolgte mit Venülen nach Koller Nr. 3c der Behringwerke Marburg.

2.1.2.4 Vorsäulen

Zur Herstellung der Vorsäulen fanden V4A-Stahlrohre (nachbehandelt, speziell für GC-Säulen) der Firma Werner Günther Analysentechnik, Griesheim (WGA) Verwendung, die eine Länge von ca. 35 cm und einen Durchmesser von 1/4 Zoll aufwiesen. Sie wurden mit jeweils 1,5 g Aktivkohle gefüllt (20/35 mesh; Perkin-Elmer u. Co., Bodenseewerke Überlingen) und an beiden Enden mit Glaswolle (behandelt mit Dimenthyldichlorsilan, WGA) verstopft. Um eine möglichst dichte Packung der Aktiv-

kohle zu gewährleisten, schloß man die Vorsäulen anschließend noch an eine Wasserstrahlpumpe an und behandelte sie gleichzeitig mit einem Vibrator.

Beide Enden wurden daraufhin noch mit Überwurfmuttern (WGA) versehen, die sowohl das Anbringen der Säulen am Gaschromatographen als auch den luftdichten Verschluß mittels Schrauben ermöglichten.

2.1.2.5 Gaschromatograph, Trennsäule und Integrator

2.1.2.5.1 Gaschromatograph (GC)

Bei dem im Rahmen dieser Untersuchung verwendeten Gaschromatographen handelte es sich um das Modell 5720 A von Hewlett-Packard (Böblingen). Es war mit einem Flammenionisationsdetektor (FID) ausgerüstet und besaß folgende Einschübe: 18790 Oven Programmer und 18788 A Electrometer. Zusätzlich war der Gaschromatograph noch mit einem Rückspülventil ausgestattet (4 Port Backflush Valve 18758 A), das sich mittels eines Drehknopfes öffnen ließ und den Trägergasstrom in umgekehrter Richtung durch die Trennsäule leitete.

Die Gas-sampling-valve war in der Weise abgeändert, daß das Trägergas bei Stellung "Loop 2" des Drehknopfes den Einspritzblock und anschließend die Trennsäule passierte, bei Stellung "Loop 1" jedoch anstatt durch den Einspritzblock über ein V4A-Stahlrohr (Durchmesser 1/16 Zoll) und ein Reduzierstück (von 1/4 auf 1/16 Zoll) zur Vorsäule geleitet wurde und diese durchströmte.

Die Vorsäule war an ihrem anderen Ende mittels eines gleichartigen Reduzierstückes wiederum mit einem V4A-Stahlrohr von 1/16 Zoll Durchmesser verbunden, über welches das Trägergas schließlich zur Trennsäule gelangte (V4A-Stahlrohre und Reduzierstücke von WGA).

2.1.2.5.2 Trennsäule

Die Trennsäule mit einer Länge von 5,15 m und einem Durchmesser von 1/8 Zoll bestand aus V4A-Stahl (nachbehandelt, speziell für GC-Säulen; WGA). Sie war gefüllt mit Chromosorb 102 (mesh-size 80/100; Lot-Nr. 273; Johns-Mansville, Celite Division Denver, Colorado).

2.1.2.5.3 Integrator

Der Integrator 3380 S von Hewlett-Packard (Böblingen) diente zum einen der Aufzeichnung der Chromatogramme, zum anderen der Berechnung der unter den einzelnen Peaks gelegenen Fläche und der digitalen Ausgabe der Integrationsergebnisse. Dies erfolgte in Form von Integrationseinheiten (IE).

2.1.2.6 Pumpe

Zum gleichmäßigen Aufziehen der verschiedenen, auf ihren Äthangehalt zu untersuchenden Gasgemische auf die Vorsäulen fand eine KNF-Hochleistungs-Membranpumpe Typ NK 07 (Kurt Neuberger KG / Freiburg-Menzingen) Verwendung.

Über einen an ihrem Eingangsstutzen angebrachten Silikonschlauch konnte die Verbindung zu einer Vorsäule hergestellt werden. Am Ausgangsstutzen war ebenfalls ein Silikonschlauch befestigt, der mit einer 200 ml-Glasspritze mit leichtgängigem Metallstempel verbunden war. Diese Vorrichtung ermöglichte es, ein genau definiertes Gasvolumen über eine Vorsäule zu ziehen.

2.1.2.7 Gase

2.1.2.7.1 Stickstoff

Stickstoff (99,999 %) fand zum einen als Trägergas Verwendung, zum anderen diente er zur Verdünnung des 1 % Äthan und 99 % Stickstoff enthaltenden Gasgemisches, mit dessen Hilfe die Retentionszeit des Äthans bestimmt wurde.

2.1.2.7.2 Gase für den FID

Die Detektorflamme wurde mit synthetischer Luft (KW-frei; 20/21 Vol % O_2 in N_2) und Wasserstoff (99,999 %) unterhalten.

2.1.2.7.3 Gasgemische zur Herstellung von Eichgasen

Das zur Herstellung des Eichgases für die Kontrolluntersuchungen verwendete Gasgemisch setzte sich zusammen aus: Äthan (0,51 ppm), Äthylen (0,5 ppm), Propan (1,42 ppm), Iso-Pentan (0,59 ppm), Pentan (0,42 ppm) und Stickstoff.

Das Ausgangsgemisch für die Eichungen der Trinkversuche hatte folgende Zusammensetzung: Äthan (0,72 ppm), Äthylen (0,5 ppm), Propan (1,0 ppm) und Stickstoff.

Zu Eichzwecken wurden beide Grundgemische jeweils mittels Sauerstoff verdünnt.

2.1.2.7.4 Äthan-Stickstoff-Gemisch

Zur Ermittlung der Retentionszeit des Äthans fand ein Gasgemisch aus 1 % Äthan und 99 % Stickstoff Verwendung, das aber auf Grund des relativ hohen Äthananteils noch verdünnt werden mußte.

2.1.2.7.5 Sauerstoff

Zur Herstellung unterschiedlich konzentrierter Eichgas-Gemische und zur Reinigung der Vorsäulen und Plastigas-Leerbeutel diente Sauerstoff (99,999 %).

Stickstoff, synthetische Luft, Wasserstoff, Sauerstoff und die beiden Ausgangsgemische für die Eichgase wurden von der Messer-Griesheim GmbH (Kornwestheim/Ludwigsburg) bezogen, das Äthan-Stickstoff-Gemisch von Linde (München).

2.2 Methode

2.2.1 Gaschromatographische Bedingungen

2.2.1.1 Gaschromatograph

Der FID war auf eine Temperatur von 165°C eingestellt, die Gas-sampling-valve mittels des Auxiliary-Temperature-Reglers auf 125°C. Die Ofentemperatur betrug zu Beginn einer Messung 30°C, nach Ablauf von ca. 1,5 Minuten wurde ballistisch auf 60°C hochgeheizt und diese Temperatur die ganze Messung über beibehalten.

Der Range-Regler stand auf 1.

2.2.1.2 Gase

Der Vordruck für den als Trägergas verwendeten Stickstoff, der vor Eintritt in den GC ein Molekularsieb passieren mußte, betrug 5 kp/cm^2, für die synthetische Luft 1,1 - 1,4 kp/cm^2 und für den Wasserstoff 1,1 kp/cm^2.

Der Flow war sowohl beim Stickstoff als auch beim Wasserstoff auf jeweils 40 ml/min. eingestellt, bei der synthetischen Luft bewegte er sich zwischen 240 und 300 ml/min..

2.2.1.3 Ölbad

Die Temperatur des Ölbades, das sowohl im Rahmen der Messung als auch der Reinigung dem Erhitzen der Vorsäulen diente, hielt ein über ein Kontaktthermometer geregelter Thermostat konstant auf 180°C.

2.2.2 Einstellungen des Integrators

Der Integrator wurde mit folgenden Einstellungen betrieben:

Attenuation:	8
Slope sensitivity:	0,1 mV/min.
Area reject:	$>10^3$ (IE)
Chart speed:	0,5 cm/min.
Start delay:	0

2.2.3 Durchführung der Äthanmessung

Nach Entfernung der beiden Verschlußschrauben einer zur Messung vorgesehenen Vorsäule wurde diese am GC befestigt. Gleichzeitig mit dem Eintauchen derselben in das Ölbad schaltete man die Gas-sampling-valve so um, daß das Trägergas durch die Vorsäule strömen konnte. Unmittelbar darauf wurde der Integrator eingeschaltet. Nach ca. 1,5 Minuten erfolgte, wie schon erwähnt, das Hochheizen des Ofens von 30°C auf 60°C. Weitere etwa 1 - 1,5 Minuten später unterbrach man den Trägergasstrom durch die Vorsäule und entnahm diese dem Ölbad, denn zu diesem Zeitpunkt war schon das gesamte auf der Vorsäule befindliche Äthan zur Trennsäule transportiert worden.

Der GC und der Integrator liefen danach noch ca. 8 Minuten, damit das Äthan, dessen Retentionszeit, wie nachfolgend noch gezeigt wird, mit etwa 9,6 Minuten bestimmt wurde, im GC sicher differenziert und durch den Integrator aufgezeichnet und berechnet werden konnte.

Anschließend entfernte man die Vorsäule vom GC.

2.2.4 Rückspülvorgang

Im Anschluß an jede Messung war es notwendig, die Trennsäule von noch in ihr befindlichen Substanzen zu reinigen. Zu diesem Zweck war der GC mit einem Rückspülventil versehen (siehe Apparatebeschreibung).

Der Rückspülvorgang erfolgte stets bei einer Ofentemperatur von 120°C und dauerte jeweils etwa 12 - 15 Minuten. Nach Ablauf dieser Zeitspanne wurde das Rückspülventil wieder auf "Vorspülen" umgestellt und die Ofentemperatur auf 30°C abgesenkt, um eine weitere Messung anschließen zu können.

2.2.5 Reinigung der Vorsäulen

Um frisch hergestellte Vorsäulen verwenden bzw. um gebrauchte wiederverwenden zu können, mußten sie von even-

tuell an die Aktivkohle adsorbierten Substanzen befreit werden. Dazu perfundierte man, nach Entfernen beider Verschlußschrauben, eine solche Vorsäule mit Sauerstoff - der Flow betrug 50 - 80 ml/min. - , wobei darauf geachtet wurde, daß der Sauerstoffstrom dieselbe Strömungsrichtung aufwies wie der Trägergasstrom im Falle einer Messung. Zusätzlich verbrachte man die Vorsäule in ein Ölbad mit einer Temperatur von 180°C und beließ sie dort für mindestens 25 Minuten. Diese Zeit reichte, wie Vorversuche ergeben hatten, aus, um sie von allen die Äthan-Bestimmung beeinträchtigenden Substanzen zu reinigen.

Nach Beendigung einer derartigen Reinigung wurde die Vorsäule wieder luftdicht verschraubt und bis zum Aufziehen des jeweils zu untersuchenden Gasgemisches bei Zimmertemperatur gelagert.

Damit eine im Verlauf einer längeren Lagerung eventuell mögliche Wiederverunreinigung sauberer Vorsäulen mit Sicherheit auszuschließen war, führte man eine solche Reinigung jeweils an dem Tag durch, an welchem die Vorsäulen für eine Untersuchung verwendet werden sollten.

2.2.6 Reinigung der Plastigas-Leerbeutel

Vor Beginn einer Untersuchung spülte man die Plastigas-Leerbeutel mehrfach mit Sauerstoff, den man jeweils nach dem letzten Spülvorgang mittels einer Pumpe vollständig absaugte. Im Anschluß daran wurden die Beutel mittels Péan-Klemmen luftdicht verschlossen.

2.2.7 Ermittlung der Retentionszeit des Äthans

Die Ermittlung der Retentionszeit des Äthans, die unter den hier gegebenen methodischen Bedingungen mit ca. 9,6 Minuten bestimmt wurde, erfolgte dergestalt, daß man, basierend auf dem schon erwähnten Ausgangsgemisch, eine Verdünnungsreihe herstellte und die Gasgemische unterschiedlicher Äthankonzentration gaschromatographisch daraufhin untersuchte, ob der bei jeder der verschiedenen Verdünnungen auftre-

tende Peak in seiner Retentionszeit mit den anderen übereinstimmte und ob sich die Peakfläche jeweils proportional zum Verdünnungsfaktor änderte.

2.2.8 Erstellen der Eichkurven

Zum Erstellen einer Eichkurve für die Kontrolluntersuchungen fanden drei Gasgemische unterschiedlicher Äthankonzentration Verwendung (8,5 ppb ≙ 151,7 pmol/400 ml Gasgemisch; 12,75 ppb ≙ 227,6 pmol/400 ml Gasgemisch; 17,00 ppb ≙ 303,5 pmol/400 ml Gasgemisch).

Die Eichkurve für die Trinkversuche wurde anhand von vier hinsichtlich ihres Äthangehalts unterschiedlich konzentrierten Gasgemischen erstellt (6,0 ppb ≙ 107,1 pmol/400 ml Gasgemisch; 12,0 ppb ≙ 214,3 pmol/400 ml Gasgemisch; 24,0 ppb ≙ 429 pmol/400 ml Gasgemisch; 48,0 ppb ≙ 854 pmol/400 ml Gasgemisch).

Diese Gasgemische erhielt man, wie oben schon kurz angedeutet, durch Mischen eines bestimmten Volumens Sauerstoff mit einem definierten Volumen des jeweiligen Ausgangsgemisches.

Von jedem dieser unterschiedliche Äthanmengen enthaltenden Gemische wurden mittels einer Pumpe 400 ml auf jeweils eine während dieses Vorganges in eisgekühltem Wasser befindliche Vorsäule gezogen und anschließend der Äthangehalt, wie in Kapitel 2.2.3 beschrieben, ermittelt.

Nachdem die Äthankonzentrationen der verschiedenen Gemische mehrfach bestimmt worden waren, berechnete man aus den als Integrationseinheiten vorliegenden Daten jeweils die Mittelwerte mit zugehörigen Standardabweichungen und trug diese gegen die zugehörigen Werte in ppb bzw. pmol/400 ml Gasgemisch in Form von Schaubildern auf.

2.2.9 Durchführung der Untersuchungen

2.2.9.1 Vorbereitung der Probanden

Sowohl die Probanden der Kontroll- als auch die der Trinkversuche durften, um in beiden Gruppen identische Ausgangsbedingungen zu haben, am jeweiligen Untersuchungstag nicht rauchen und keine alkoholischen Getränke zu sich nehmen. Außerdem sollte die letzte Mahlzeit spätestens sechs Stunden vor Versuchsbeginn eingenommen und innerhalb dieser Zeitspanne auch keine Flüssigkeit zugeführt werden.

Die beiden letztgenannten Maßnahmen dienten im Rahmen der Trinkversuche dem Zweck, eine möglichst rasche und vollständige Resorption des Alkohols aus dem Magen-Darm-Trakt zu erreichen und damit einen möglichst schnellen Anstieg und ein höheres Niveau des Blutalkoholspiegels zu erzielen.

Damit sich ein Gleichgewichtszustand zwischen dem im Versuchszimmer und dem im Körper vorhandenen Äthan einstellen konnte, waren die Probanden aufgefordert worden, sich 15 - 20 Minuten vor Versuchsbeginn, der jeweils auf 19.30 Uhr festgesetzt war, im Untersuchungsraum einzufinden. Diese Zeitspanne war, wie Untersuchungen von Lührs (persönliche Mitteilung) ergeben hatten, für die Äquilibrierung des Äthans der Umgebung mit dem im Körper befindlichen bei weitem ausreichend.

2.2.9.2 Kontrolluntersuchungen

Nach Ablauf der oben erwähnten Äquilibrierungszeit mußten der bzw. die Probanden im Anschluß an eine normale Inspiration max. in einen Plastigas-Leerbeutel ausatmen.

Zur selben Zeit zog man mittels einer Pumpe 400 ml Zimmerluft auf eine Vorsäule, die sich während dieses Vorgangs in eisgekühltem Wasser befand und nach ihrem luftdichten Verschluß bis zur gaschromatographischen Bestimmung des an die Aktivkohle adsorbierten Äthans im Kühlschrank bei 4 - 6°C gelagert wurde.

Von der im Plastigas-Beutel gesammelten Exspirationsluft wurden daraufhin ebenfalls 400 ml auf eine von eisgekühltem Wasser umgebene Vorsäule gezogen. Nach deren Verschluß wiederholte man, um Doppelbestimmungen durchführen zu können, diesen Vorgang, d.h. eine zweite Vorsäule wurde mit 400 ml Gasgemisch aus demselben Atemgasbeutel beschickt. Wie zuvor schon die Vorsäule mit der Zimmerluft verbrachte man auch diese beiden Vorsäulen in den Kühlschrank.

90 Minuten später und danach zwei weitere Male im Abstand von je einer Stunde verfuhr man wie zuvor beschrieben. Jeweils am nächsten Morgen gegen 7.30 Uhr, also zwölf Stunden nach dem ersten Aufbringen von Zimmer- und Exspirationsluft auf Vorsäulen, erfolgte dann die letzte derartige Probennahme.

2.2.9.3 Trinkversuche

Die Trinkversuche fanden in Zweier- bzw. Dreier-Gruppen statt.

Im Anschluß an die Äquilibrierungszeit (siehe "Vorbereitung der Probanden") forderte man jeden Probanden auf, nach Beendigung einer normalen Inspiration maximal in einen Plastigas-Leerbeutel auszuatmen. Daraufhin erhielt er die für eine Zufuhr von 1 g Äthanol pro kg Körpergewicht errechnete Menge Wein, der im Verlauf von 75 Minuten möglichst gleichmäßig getrunken werden sollte. Diese kurze Zeitspanne war gewählt worden, um möglichst rasch einen relativ hohen Blutalkoholspiegel herbeiführen zu können.

Von jeder Atemgasprobe wurden jeweils 400 ml auf eine Vorsäule aufgezogen (siehe "Kontrolluntersuchungen").

90 Minuten nach der ersten Probennahme und dem Beginn der Weinzufuhr - dem Probanden blieben nach Ablauf der zur Einnahme des Weins festgesetzten 75 Minuten noch 15 Minuten zur vollständigeren Resorption - erfolgte eine zweite. Zusätzlich fand eine Blutentnahme zur Kontrolle des Blutalkoholspiegels statt, um die jeweils in der Exspirations-

luft gemessene Äthanmenge einem bestimmten Blutalkoholwert zuordnen zu können.

Wie die Vorsäule wurde auch die Venüle mit dem gewonnenen Blut sofort in den Kühlschrank verbracht.

Die Zeitintervalle zwischen den weiteren Probennahmen, die jeweils mit einer Blutentnahme einhergingen, waren identisch mit den bei den Kontrolluntersuchungen beschriebenen, d.h. es folgten weitere zwei in jeweils einstündigen Abständen, eine letzte dann am darauffolgenden Morgen gegen 7.30 Uhr.

Mit dem bzw. den weiteren Probanden wurde in entsprechender Weise verfahren. Dabei betrug der zeitliche Abstand zwischen den einzelnen Probanden etwa 5 - 10 Minuten. Diese Zeitspanne war notwendig, um das Blut für die Bestimmung des Blutalkoholspiegels abzunehmen und um die gewonnene Exspirationsluft auf Vorsäulen aufzubringen.

Im Gegensatz zu den Kontrolluntersuchungen fanden im Rahmen der Trinkversuche keine kontinuierlichen Untersuchungen der Zimmerluft statt.

2.2.10 Bestimmung des Blutalkoholspiegels

Nach Beendigung jeder Sitzung wurden die Venülen mit dem gewonnenen Blut in einer Kühlbox zum Gerichtsmedizinischen Institut der Universität Tübingen transportiert, wo die Bestimmung des Blutalkoholspiegels erfolgte.

Diese führte man dort nach einer von Machata (1967) beschriebenen, in einigen technischen Details jedoch modifizierten Methode durch, bei der es sich um die gaschromatographische Analyse des Dampfes über einer Lösung handelt.

Als Gaschromatograph diente ein Multifract F 40 (Perkin-Elmer und Co., Bodenseewerke Überlingen) mit Flammenionisationsdetektor und zur Auswertung ein Chromatography Data Analyzer, Autolab System IVB (Spectra-Physics, Darmstadt).

Für jede Probe fanden Doppelbestimmungen statt, aus deren Ergebnissen dann jeweils der Mittelwert errechnet wurde.

3. Ergebnisse

3.1 Eichungen

3.1.1 Kontrolluntersuchungen

Die zur Erstellung einer Eichkurve ermittelten Daten sind in nachfolgender Tabelle (Tab.2) zusammengefaßt.

Gasgemisch 1	Gasgemisch 2	Gasgemisch 3
100 184	134 642	164 921
106 061	149 495	123 553
78 419	94 624	157 470
72 934	100 172	142 027
	101 236	142 149
	125 444	164 000
	122 049	186 513
	119 067	190 626
	94 692	140 257
	109 939	126 399
	112 464	150 989
	128 719	142 175
	96 057	130 835
	110 929	178 692
	90 627	140 814
		152 472
		127 779
		150 282
		152 057
		162 401
		178 875
		128 380
		147 252
$\bar{x}$ = 89 400	$\bar{x}$ = 112 677	$\bar{x}$ = 151 344
s = 16 182	s = 17 106	s = 19 303

Tab.2: Darstellung der mit Gasgemischen unterschiedlicher Äthanbeimengung gewonnenen Daten. Als Maßeinheit dienen Integrationseinheiten (IE).

Gasgemisch 1: 8,50 ppb Äthan ≙ 151,7 pmol Äthan/400 ml Gasgemisch

Gasgemisch 2: 12,75 ppb Äthan ≙ 227,6 pmol Äthan/400 ml Gasgemisch

Gasgemisch 3: 17,00 ppb Äthan ≙ 303,5 pmol Äthan/400 ml Gasgemisch

Zusätzlich angeführt sind die für die einzelnen Gasgemische errechneten Mittelwerte ($\bar{x}$) mit zugehöriger Standardabweichung (s).

Bei eingehender Betrachtung dieser Ergebnisse fällt auf, daß die für die einzelnen Eichgasgemische durchgeführten Messungen beträchtliche Schwankungen aufweisen, was sich insbesondere auch in den Standardabweichungen widerspiegelt.

Die Übertragung der Mittelwerte mit den zugehörigen Standardabweichungen und der jeweils diesen Werten zugrunde liegenden Äthankonzentration in ppb bzw. der Äthanmenge in pmol/400 ml Eichgasgemisch in ein Schaubild (Abb.2) zeigt, daß die Punkte annähernd auf einer Geraden liegen.

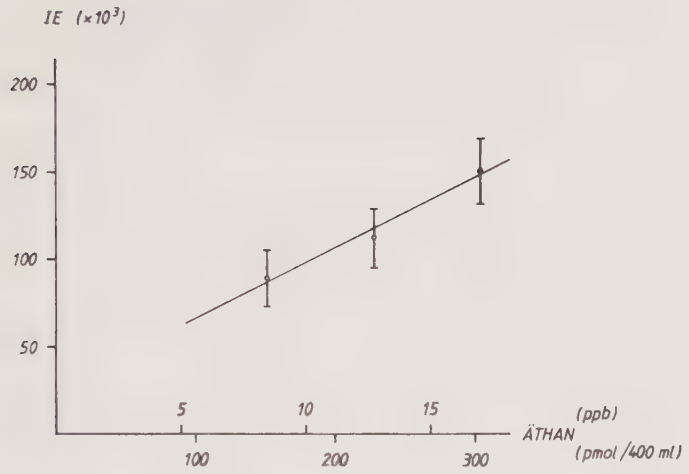


Abb.2: Darstellung der Eichkurve

Die einzelnen Punkte repräsentieren die für die Gasgemische unterschiedlicher Äthankonzentration bzw. - menge errechneten Mittelwerte (jeweils mit Standardabweichung).
Die durchgezogene Gerade stellt die Regressionsgerade dar.
Abszisse: Äthankonzentration bzw. - masse in ppb bzw. pmol/400 ml Gasgemisch
Ordinate: Gaschromatographisch ermittelte Äthanmenge in Integrationseinheiten (IE).

Ausgehend von dieser Tatsache wurden aus den bekannten Äthankonzentrationen (in ppb) bzw. Äthanmengen (in pmol/400 ml Gasgemisch) und den jeweils zugehörigen Mittelwerten (in IE) die Gleichungen der Regressionsgeraden erstellt. Diese lauten wie folgt:

(1) $y = 7287{,}53x + 24891$ (für ppb)

(2) $y = 408{,}06x + 24931{,}81$ (für pmol)

Mit Hilfe dieser Geradengleichungen ließen sich die im Rahmen der Kontrolluntersuchungen gewonnenen Daten, die ja primär als Integrationseinheiten vorlagen, in Konzentrations- bzw. Masseneinheiten, d.h. in ppb bzw. pmol/400 ml Gasgemisch umrechnen.

3.1.2 Trinkversuche

Die Meßergebnisse der für die Trinkversuche durchgeführten Eichungen sind in Tab.3 dargestellt:

Gasgemisch 1	Gasgemisch 2	Gasgemisch 3	Gasgemisch 4
36 426	64 576	123 900	269 591
36 000	63 155	128 635	239 045
35 313	64 622	127 895	252 680
35 783	67 236	132 773	251 050
34 209	64 887	133 167	267 810
32 964	59 943	114 309	270 997
41 442	60 467	121 036	247 914
35 629	65 094	116 203	254 939
27 782	69 000	138 185	231 244
31 839	68 000		246 025
35 203	64 800		266 309
35 000	67 243		254 686
	62 000		
	67 266		
	62 186		
	73 000		
$\bar{x}$ = 34 799	$\bar{x}$ = 65 217	$\bar{x}$ = 126 234	$\bar{x}$ = 254 358
s = 3 192	s = 3 369	s = 8 043	s = 12 528

Tab.3: Darstellung der mit Gasgemischen verschiedenen Äthangehalts gewonnenen Meßdaten (in IE).

Gasgemisch 1: 6 ppb Äthan $\hat{=}$ 107,1 pmol Äthan/400 ml Gasgemisch

Gasgemisch 2: 12 ppb Äthan $\hat{=}$ 214,3 pmol Äthan/400 ml Gasgemisch

Gasgemisch 3: 24 ppb Äthan $\hat{=}$ 429,0 pmol Äthan/400 ml Gasgemisch

Gasgemisch 4: 48 ppb Äthan $\hat{=}$ 858,0 pmol Äthan/400 ml Gasgemisch

Aufgeführt sind weiterhin die für die einzelnen Gasgemische errechneten Mittelwerte ($\bar{x}$) mit zugehöriger Standardabweichung (s).

Auch hier lassen sich innerhalb der einzelnen Gasgemische zwischen dem jeweils niedrigsten und höchsten Meßwert deutliche Schwankungen erkennen, die allerdings im Vergleich zu den Kontrollversuchen geringer sind.

Die graphische Darstellung der Ergebnisse dieser Eichungen (Abb.3) zeigt, daß die einzelnen Punkte, wie bei den Kontrollversuchen, annähernd auf einer Geraden liegen.

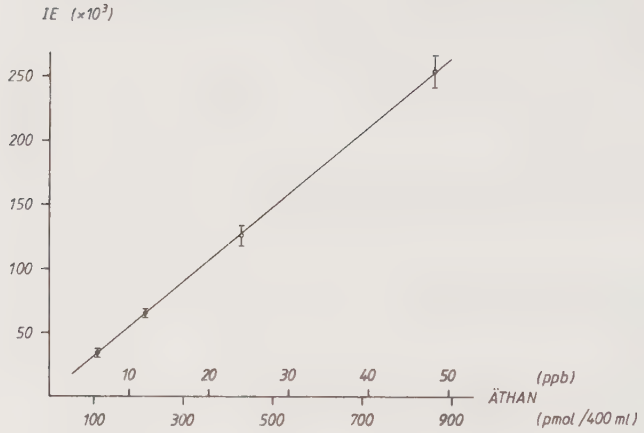


Abb.3: Darstellung der Eichkurve

Im Schaubild sind sowohl die aus den Meßergebnissen errechneten Mittelwerte mit zugehöriger Standardabweichung als auch die Regressionsgerade aufgeführt.
Abszisse: Äthankonzentration bzw. - masse in ppb bzw. pmol/400 ml Gasgemisch
Ordinate: Gaschromatographisch ermittelte Äthanmenge in Integrationseinheiten (IE).

Zum Zwecke der Umrechnung der als Integrationseinheiten vorliegenden Meßwerte in ppb bzw. pmol/400 ml Gasgemisch wurden auch hier die Gleichungen der Regressionsgeraden erstellt. Sie lauten:

(3) $y = 5233{,}35x + 2401{,}61$ (für ppb)

(4) $y = 292{,}70x + 2456{,}52$ (für pmol)

3.2 Kontrolluntersuchungen

Da die uns umgebende Atmosphäre stets einen gewissen Anteil an Äthan enthält, sollten die Kontrollversuche klären, wie sich die in der Exspirationsluft der einzelnen Probanden enthaltene Äthanmenge zu der im Untersuchungsraum befindlichen verhält.

Die im Rahmen dieser Untersuchungen ermittelten Meßwerte sind in den nachfolgenden Tabellen (Tab.4, 5, 6, 7) aufgeführt und in den Abbildungen 4 - 7 graphisch dargestellt.

Tabelle 4

a) Äthan in der Atemluft

	ppb			pmol/400 ml		
	1	2	$\bar{x}$	1	2	$\bar{x}$
Probe 1	12,89	15,38	14,14	230,07	274,53	252,30
Probe 2	--	19,12	19,12	--	341,43	341,43
Probe 3	19,04	17,89	18,47	339,91	319,43	329,67
Probe 4	20,67	19,08	19,88	369,06	340,62	354,84
Probe 5	13,74	13,63	13,69	245,21	243,35	244,28

b) Äthan in der Zimmerluft

	ppb	pmol/400 ml
Probe 1	17,97	320,81
Probe 2	19,49	347,96
Probe 3	17,76	317,04
Probe 4	16,73	298,59
Probe 5	14,10	251,67

Tabelle 5

a) Äthan in der Atemluft

	ppb			pmol/400 ml		
	1	2	$\bar{x}$	1	2	$\bar{x}$
Probe 1	18,83	14,36	16,60	336,12	256,38	296,25
Probe 2	23,24	19,56	21,40	414,90	349,24	382,07
Probe 3	21,11	22,73	21,92	376,91	405,80	391,36
Probe 4	16,73	21,85	19,29	298,72	390,09	344,41
Probe 5	16,20	19,41	17,81	289,16	346,50	317,83

b) Äthan in der Zimmerluft

	ppb	pmol/400 ml
Probe 1	12,03	214,73
Probe 2	17,66	315,35
Probe 3	20,73	370,10
Probe 4	13,92	248,47
Probe 5	12,26	218,79

Tabelle 6

a) Äthan in der Atemluft

	ppb			pmol/400 ml		
	1	2	$\bar{x}$	1	2	$\bar{x}$
Probe 1	16,95	--	16,95	302,70	--	302,70
Probe 2	23,88	18,59	21,24	426,33	331,86	379,10
Probe 3	17,71	18,34	18,03	316,11	327,35	321,73
Probe 4	17,98	20,00	18,99	321,07	357,04	339,06
Probe 5	13,14	13,55	13,35	234,56	241,85	238,21

b) Äthan in der Zimmerluft

	ppb	pmol/400 ml
Probe 1	12,03	214,73
Probe 2	17,66	315,35
Probe 3	20,73	370,10
Probe 4	13,92	248,47
Probe 5	12,26	218,79

Tabelle 7

a) Äthan in der Atemluft

	ppb			pmol/400 ml		
	1	2	$\bar{x}$	1	2	$\bar{x}$
Probe 1	10,89	13,12	12,01	194,31	234,24	214,28
Probe 2	12,85	13,87	13,36	229,44	247,63	238,54
Probe 3	13,24	8,86	11,05	236,41	158,21	197,31
Probe 4	12,39	15,91	14,15	221,16	284,09	252,63
Probe 5	6,68	7,60	7,14	119,24	135,66	127,45

b) Äthan in der Zimmerluft

	ppb	pmol/400 ml
Probe 1	7,80	139,24
Probe 2	10,42	186,05
Probe 3	10,80	192,75
Probe 4	12,78	228,15
Probe 5	5,86	104,63

Tab.4 - 7: Die Tabellen enthalten die Meßergebnisse der auf ihren Äthangehalt hin untersuchten Exspirationsluft der einzelnen Probanden (jeweils Tabelle a) und der jeweils mituntersuchten Luft des Untersuchungsraumes (jeweils Tabelle b) sowohl in ppb als auch in pmol/400 ml Gasgemisch.

In den Tabellen a) sind zusätzlich noch die aus den einzelnen Doppelbestimmungen errechneten Mittelwerte ($\bar{x}$) aufgeführt.

Tabelle 4: Proband 13
Tabelle 5: Proband 5
Tabelle 6: Proband 10
Tabelle 7: Proband 6

Abb.4

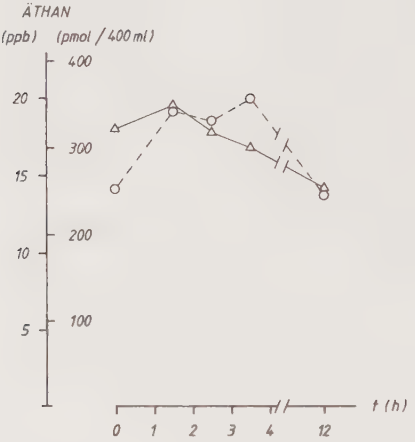

ÄTHAN
(ppb)
(pmol / 400 ml)
400
20
300
15
200
10
100
5
t (h)
0
1
2
3
4
12

Abb.5

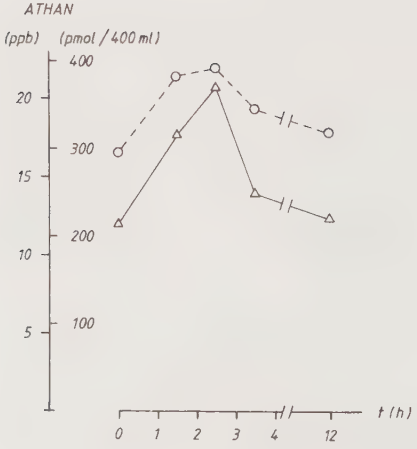

ATHAN
(ppb)
(pmol / 400 ml)
400
20
300
15
200
10
100
5
t (h)
0
1
2
3
4
12

Abb.6

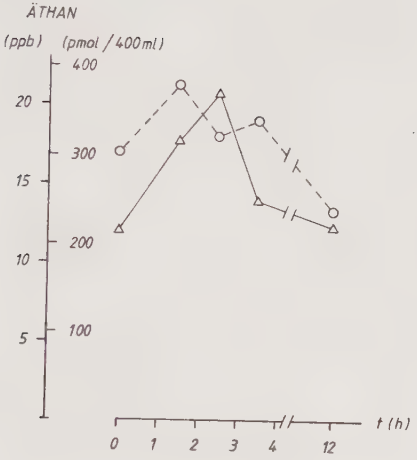

ÄTHAN
(ppb)
(pmol / 400ml)
400
20
300
15
200
10
100
5
t (h)
0
1
2
3
4
12

Abb.7

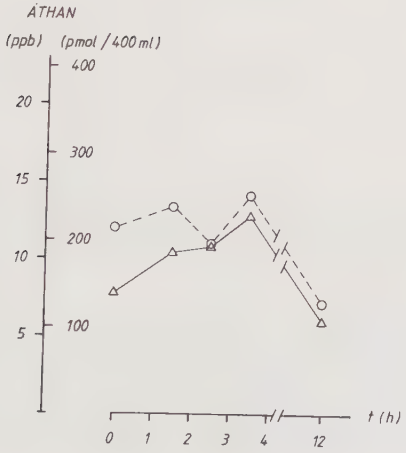

ÄTHAN
(ppb)
(pmol / 400ml)
400
20
300
15
200
10
100
5
t (h)
0
1
2
3
4
12

Abb.4 - 7: Graphische Darstellung der sowohl in der Exspirationsluft der einzelnen Probanden als auch in der Luft des Untersuchungsraumes gemessenen Äthanwerte in Abhängigkeit von der Zeit.

Die Exspirationsluftwerte repräsentieren die jeweils aus zwei Bestimmungen errechneten Mittelwerte.

O = Äthangehalt in der Exspirationsluft

△ = Äthangehalt in der Zimmerluft

Abszisse: Zeit (t) in Stunden (h)

Ordinate: Äthangehalt der Exspirations- bzw. Zimmerluft in ppb und pmol/400 ml Gasgemisch

Abb.4: Proband 13

Abb.5: Proband 5

Abb.6: Proband 10

Abb.7: Proband 6

Die Kurven des Äthangehalts der Exspirationsluft und die des Äthangehalts der Zimmerluft lassen, abgesehen von Proband 5, in ihren Verläufen keine Übereinstimmung erkennen.

Diese Tatsache ließ es notwendig erscheinen, zu untersuchen, ob die Unterschiede zwischen den in der Exspirationsluft und den gleichzeitig dazu in der Luft des Untersuchungsraumes bestimmten Äthanmengen nicht rein zufälliger Natur sind.

Auf Grund des geringen Zahlenmaterials bot sich dafür der von Van der Waerden und Nievergelt (1956) beschriebene X-Test, ein unabhängig von einer Normalverteilung durchzuführendes, parameterfreies Testverfahren an, das hier als zweiseitiger Test und mit einer Irrtumswahrscheinlich-

keit von 5 % für jeden einzelnen Probanden durchgeführt wurde.

Dabei ging man, insbesondere im Hinblick auf die sowohl bei den Eichungen als auch bei einem großen Teil der im Rahmen der Kontrolluntersuchungen durchgeführten Doppelbestimmungen festzustellenden Meßwertschwankungen von der Annahme aus, daß die im Verlauf einer Sitzung zu den verschiedenen Zeitpunkten gemessenen, unterschiedlichen Äthanwerte sowohl der Zimmerluft als auch der Exspirationsluft keine Schwankungen des Äthangehalts der Atmosphäre repräsentieren, sondern methodisch bedingt und demzufolge zeitunabhängig sind, sodaß jeweils alle von einem Probanden gewonnenen Exspirationsluftwerte mit allen in derselben Sitzung gewonnenen Zimmerluftwerten verglichen werden konnten.

Die für jeweils n = 10 Meßwerte bei 2,60 liegende Schranke wurde in keinem Fall überschritten. Sie lag für Proband 13 bei $\pm$ 0,35, für Proband 5 bei $\pm$ 2,36, für Proband 10 bei $\pm$ 1,58 und für Proband 6 bei $\pm$ 1,80.

Daraus folgt, daß zwischen den in der Exspirationsluft der einzelnen Probanden und den jeweils in der Luft des Untersuchungsraumes gemessenen Äthanwerten kein signifikanter Unterschied besteht.

3.3 Trinkversuche

Die Meßergebnisse der Trinkversuche sind in der Tabelle 8 und in einigen exemplarischen Schaubildern (Abb.8 - 10) dargestellt.

Im Rahmen der Trinkversuche wurde der Äthanwert der Nüchternprobe (Leerwert = LW), ausgehend von der Tatsache, daß zwischen dem Äthangehalt der Exspirationsluft und dem der Zimmerluft kein signifikanter Unterschied besteht und die

im Verlauf einer Untersuchungsperiode, d.h. von jeweils 19.30 Uhr bis 7.30 Uhr, auftretenden Schwankungen mit größter Wahrscheinlichkeit auf methodischen Ursachen beruhen, als "Nullpunkt" bzw. "Nullinie" betrachtet.

	Äthan in ppb					Äthan in pmol/400 ml					BAS in ‰			
PD	LW	Pr.1	Pr.2	Pr.3	Pr.4	LW	Pr.1	Pr.2	Pr.3	Pr.4	Pr.1	Pr.2	Pr.3	Pr.4
1	--	7,82	6,42	8,03	--	--	139,67	114,60	143,30	--	1,09	1,10	0,98	0,02
2	--	10,11	4,94	9,67	5,70	--	180,58	88,17	172,68	101,76	1,21	1,04	0,94	0,00
3	9,28	17,50	15,15	18,08	10,81	165,81	312,75	270,73	323,00	193,18	1,05	1,08	0,92	0,03
4	--	--	6,84	6,44	9,43	--	--	122,07	114,97	168,42	1,10	0,98	0,91	0,00
5	8,62	11,26	4,70	10,54	8,76	153,89	201,05	83,85	188,31	156,52	0,88	0,84	0,75	0,03
6	11,15	10,37	--	9,31	--	199,16	185,18	--	166,30	--	0,82	1,03	0,88	0,04
7	11,54	5,46	6,24	--	4,60	206,13	97,52	111,33	--	82,06	1,02	1,17	1,10	0,05
8	5,66	7,70	6,22	--	7,18	100,93	137,42	110,96	--	128,27	0,96	1,06	0,94	0,00
9	6,95	5,46	4,61	7,46	7,18	124,02	97,52	82,25	133,20	128,27	0,97	1,05	0,94	0,01
10	8,09	5,24	8,64	5,47	7,18	144,50	93,50	154,36	97,65	128,27	0,97	1,10	1,02	0,02
11	6,95	8,75	8,86	7,22	6,28	124,10	156,28	158,26	128,95	112,04	1,16	1,18	1,11	0,00
12	4,26	4,56	6,61	7.28	2,91	75,99	81,42	118,02	129,97	51,86	0,89	0,95	0,75	0,00

Tab.8: Die Tabelle zeigt die in der Exspirationsluft der einzelnen Probanden (PD) gemessenen Äthanwerte sowohl in ppb als auch in pmol/400 ml Gasgemisch und den Blutalkoholspiegel (BAS) in Promille (‰).
Die unter der Bezeichnung LW (Leerwert) angeführten Werte stellen den jeweils vor Alkoholingestion gemessenen Äthanspiegel dar.

Abb.8

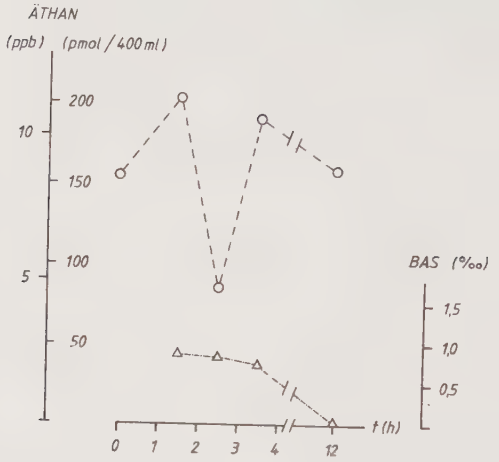

ÄTHAN
(ppb)
(pmol / 400 ml)
10
5
200
150
100
50
BAS (‰)
1,5
1,0
0,5
t (h)
0
1
2
3
4
12

Abb.9

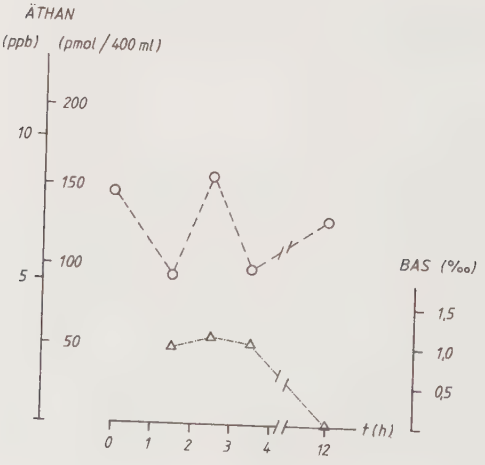

ÄTHAN
(ppb)
(pmol / 400 ml)
10
5
200
150
100
50
BAS (‰)
1,5
1,0
0,5
t (h)
0
1
2
3
4
12

Abb.10

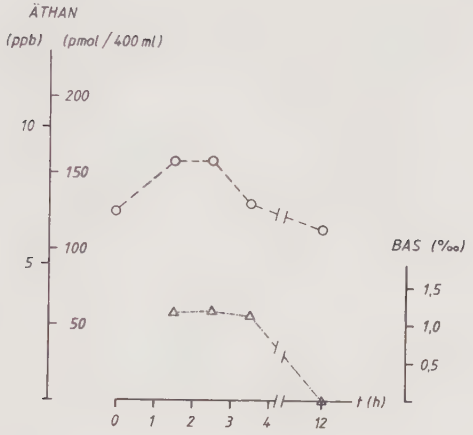


Abb.8 - 10: Graphische Darstellung der Meßergebnisse dreier Probanden in Abhängigkeit von der Zeit.

O = abgeatmetes Äthan

△ = Blutalkoholspiegel (BAS)

Abszisse: Zeit (t) in Stunden (h)

Ordinate: links: Äthan in ppb bzw. pmol/400 ml Gasgemisch

rechts: Blutalkoholspiegel (BAS) in Promille (‰)

Abb.8: Proband 5

Abb.9: Proband 10

Abb.10: Proband 11

Die Meßergebnisse der einzelnen Probanden zeigen, wie der Tabelle 8 und den für die Untersuchung repräsentativen Abb.8 - 10 entnommen werden kann, kein einheitliches Bild. So liegen die Äthanwerte der ersten Probe z.T. über den jeweiligen Leerwerten, fallen dann aber bei der zweiten Probe wieder ab (Proband 3, 5 und 8), in einem Fall sogar unter den Leerwert (Proband 5).

Teilweise sinken die Werte der ersten Probe aber auch unter den Leerwert, wie z.B. bei den Probanden 6, 7, 9 und 10, um bei Probe 2 entweder wieder anzusteigen (Proband 7 und 10) oder noch weiter abzufallen (Proband 9).

Derartige Schwankungen der Äthanwerte von Probe zu Probe können sich bis zur letzten Probe fortsetzen.

Bei zwei Probanden (11 und 12) schließlich läßt sich ein Anstieg der Äthanwerte, ausgehend vom Leerwert, bis zur zweiten (Proband 11) bzw. dritten Probe (Proband 12) verzeichnen.

Diese in ihrer Gesamtheit stark differierenden Ergebnisse lassen keine durch Äthanol stimulierte Lipidperoxidation mit daraus resultierendem deutlichem Anstieg des Äthangehalts der Exspirationsluft erkennen.

Der Tabelle 8 läßt sich weiterhin entnehmen, und dies scheint besonders bemerkenswert, daß, abgesehen von Proband 3, die Äthanwerte der Trinkversuche ein deutlich geringeres Niveau aufweisen als die bei den Kontrolluntersuchungen gewonnenen.

4. Diskussion

Nachdem die von Di Luzio 1963 erstmals aufgestellte Hypothese, daß als ursächlicher Faktor einer alkoholisch bedingten Leberverfettung die Peroxidation ungesättigter Lipide anzusehen sei, durch zahlreiche in-vitro-Untersuchungen (Kalish and Di Luzio, 1966; Comporti, Hartman and Di Luzio, 1967; Di Luzio and Hartman, 1969; Reitz, 1975; Remmer, Albrecht and Kappus, 1977), in denen der Nachweis einer Lipidperoxidation anhand verschiedener Methoden geführt wurde, starke Unterstützung fand, waren es 1974 Riely et al., die mit ihrer Entdeckung einer durch Lipidperoxidation hervorgerufenen, messbaren Äthanproduktion bei Ratten einen neuen, vielversprechenden Weg in Richtung auf einen in-vivo-Nachweis eines durch Äthanolingestion hervorgerufenen Leberschadens wiesen.

Diese Tatsache einer im Rahmen der Peroxidation mehrfachungesättigter Fettsäuren auftretenden Produktion flüchtiger Kohlenwasserstoffe, die sich jeweils in der Exspirationsluft der Versuchstiere fanden und gaschromatographisch quantifizieren ließen, machten sich in jüngster Zeit mehrere Untersucher zunutze, um eine durch unterschiedliche Ursachen hervorgerufene, auf einer Lipidperoxidation beruhende Leberschädigung nachzuweisen.

So konnten beispielsweise Hafeman und Hoekstra einmal anhand einer deutlich erhöhten Bildung von Äthan zeigen, daß allein ein Mangel des Antioxidans Vitamin E bei Ratten eine leberschädigende Lipidperoxidation zu verursachen in der Lage ist (1977 b). Zum anderen war die Äthanexspiration bei einer Tetrachlorkohlenstoff-Intoxikation, die eine starke Lipidperoxidation hervorzurufen vermag, als Folge der antioxidativen Wirkung von Vitamin E signifikant erniedrigt (1977 a).

Auch Dillard, Dumelin und Tappel (1977) demonstrierten die antioxidative, also vor Lipidperoxidation schützende Wirkung von Vitamin E anhand einer im Vergleich zu den Kontrollen eindeutig geringeren Pentan- bzw. Äthanexspi-

ration ihrer Versuchstiere.

Köster, Albrecht und Kappus (1977) und Köster und Remmer (1977) führten den Nachweis einer bei Ratten und Mäusen sowohl durch Tetrachlorkohlenstoff als auch durch Äthanol induzierten Lipidperoxidation ebenfalls über die Untersuchung des Äthangehalts der Exspirationsluft. Verglichen mit den Kontrollen war dieser auch hier eindeutig erhöht.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung, die im Gegensatz zu den oben erwähnten Arbeiten am Menschen und daher in einem offenen System durchgeführt wurde, können diese in Tierversuchen gewonnenen Ergebnisse einer durch Äthanolingestion induzierten Lipidperoxidation mit daraus resultierender Exspiration von Äthan nicht bestätigen.

Eine nicht unbedeutende Rolle könnte in diesem Zusammenhang die im Rahmen dieser Studie verwendete Äthanoldosis von 1 g/kg Körpergewicht spielen. Bei den Untersuchungen von Köster, Albrecht und Kappus (1977) und Köster und Remmer (1977) lag nämlich die eine deutlich meßbare Äthanfreisetzung auslösende Dosis mit 5 g/kg Körpergewicht wesentlich höher und auch in zahlreichen in-vitro-Untersuchungen, in denen eine alkoholisch induzierte Lipidperoxidation nachgewiesen werden konnte (Kalish and Di Luzio, 1966; Comporti, Hartman and Di Luzio, 1967; Di Luzio and Hartman, 1969; Remmer, Albrecht and Kappus, 1977), bewegte sich die Dosis in einem Bereich von 6 - 8,5 g/kg Körpergewicht. Demzufolge bestünde also durchaus die Möglichkeit, daß eine Äthanoldosis, wie sie in der vorliegenden Untersuchung Verwendung fand, noch keine Lipidperoxidation auszulösen vermag.

Die Verabreichung einer höheren als der erwähnten Dosis an die Versuchspersonen schloß sich jedoch aus ethischen Erwägungen aus.

Ein weiterer Grund könnte auch in einer unterschiedlichen Stoffwechselrate von Mensch und Ratte bzw. Maus liegen. Diese Tiere weisen nämlich einen wesentlich höheren Stoffumsatz auf als der Mensch (Florey, 1970).

Dieser gesteigerte Stoffumsatz, der mit Sicherheit auch die Metabolisierung des Äthanols beinhaltet, könnte dazu führen, daß die eine Lipidperoxidation initiierende Reaktion, deren Mechanismus man für das Äthanol derzeit noch nicht kennt, ebenfalls in gesteigertem Maße abläuft. Damit ließe sich dann auch die im Tierversuch deutlich erkennbare Steigerung der Äthanproduktion nach Äthanolingestion erklären.

Weiterhin gilt es zu berücksichtigen, daß der Nachweis einer durch Lipidperoxidation hervorgerufenen, gesteigerten Exspiration von Äthan bislang nur in geschlossenen Systemen erfolgte (Hafeman and Hoekstra, 1977, a, b; Dillard, Dumelin and Tappel, 1977; Köster, Albrecht and Kappus, 1977; Köster and Remmer, 1977), wohingegen die vorliegende Studie im offenen System durchgeführt wurde.

Ein Vergleich der im Rahmen der Kontrolluntersuchungen gewonnenen Äthanwerte mit denjenigen der Trinkversuche zeigt dann auch, daß die Kontrollpersonen wesentlich höhere Äthanmengen in ihrer Exspirationsluft aufwiesen als die Probanden, die an den Trinkversuchen beteiligt waren.

Diese Beobachtung könnte eine einfache Erklärung darin finden, daß die beiden Untersuchungen zu verschiedenen Jahreszeiten stattfanden. Die Kontrolluntersuchungen erfolgten nämlich im Winter, die Trinkversuche im Sommer.

Es wäre also durchaus vorstellbar, daß klimatisch bedingte Schwankungen des Äthangehalts der Atmosphäre und daraus resultierend natürlich auch der Atemluft für diese Ergebnisse verantwortlich zeichnen könnten.

Außerdem könnte auch der in den Wintermonaten verstärkte Hausbrand zu einem höheren Äthananteil in der uns umgebenden Atmosphäre beitragen.

Eine Klärung dieser Fragen scheint im Hinblick auf die Aussagekraft derartiger im offenen System geführter Untersuchungen unumgänglich.

Letztendlich sollte aber auch überlegt werden, ob die in der vorliegenden Studie verwendete Meßmethode zuverlässig

ist. Betrachtet man nämlich beispielsweise die bei den Eichungen sowohl der Kontroll- als auch der Trinkversuche gewonnenen Werte (Tab.2 und 3), so fällt auf, daß zwischen dem jeweils aus ein und demselben Gasgemisch gewonnenen niedrigsten und höchsten Wert beträchtliche Schwankungen auftreten.

Schließlich weisen auch die Doppelbestimmungen, die bei den Kontrolluntersuchungen für die einzelnen Exspirationsluftproben durchgeführt wurden, hinsichtlich der aus ein und derselben Exspirationsluftprobe gewonnenen Äthanwerte erhebliche Differenzen auf.

Diese Befunde scheinen ein deutliches Indiz dafür zu sein, daß sowohl die bei den Kontrolluntersuchungen im Verlauf einer Sitzung auftretenden Schwankungen des Äthangehalts der Exspirationsluft und auch der gleichzeitig mituntersuchten Zimmerluft als auch die bei den Trinkversuchen gefundenen Konzentrationsschwankungen des in der Exspirationsluft der jeweiligen Probanden ermittelten Äthans auf eine für derartige Messungen zu ungenaue Methode und nicht auf eine metabolisch bedingte Änderung des Äthangehalts der Exspirationsluft zurückzuführen sind.

Der bei den Probanden 11 und 12 festgestellte, über einige Stunden andauernde Anstieg des abgeatmeten Äthans bewegt sich auch im Bereich der Meßwertschwankungen und könnte demzufolge durchaus zufälliger Natur sein.

Als Ursache für diese Meßschwankungen kommt mit großer Wahrscheinlichkeit die Verwendung von Vorsäulen zum Beschicken des GC mit einer definierten Menge Exspirationsgases in Betracht.

Die im Rahmen dieser Studie gewonnenen Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß unter den Bedingungen des offenen Systems ohne einschneidende Modifizierung der Untersuchungsmethode der Nachweis einer beim Menschen durch Äthanolingestion induzierten Lipidperoxidation mit daraus sich ergebender gesteigerter Äthanexspiration nicht geführt werden kann.

5. Zusammenfassung

Zwölf freiwillige Probanden, in deren Anamnese keine Leberschädigung bekannt war, erhielten nach mindestens sechsstündigem Fasten innerhalb von 75 Minuten Äthanol in einer Dosierung von 1 g/kg Körpergewicht. Kurz vor Äthanolingestion und danach in bestimmten Zeitintervallen wurde über eine Dauer von insgesamt zwölf Stunden die Exspirationsluft der einzelnen Probanden gaschromatographisch auf ihren Äthangehalt hin untersucht.

Die Kontrolluntersuchungen, an denen vier Probanden beteiligt waren, die in ihrer Anamnese ebenfalls keine Leberschädigungen aufwiesen, erfolgten nach demselben Schema wie die Trinkversuche, nur daß die Probanden keinen Alkohol erhielten und jeweils gleichzeitig mit der Exspirationsluft auch die Zimmerluft auf ihren Äthangehalt hin untersucht wurde.

Als Eichkurve resultierte sowohl bei den Kontroll- als auch bei den Trinkversuchen eine Gerade.

Im Rahmen der Eichungen fiel auf, daß aus ein und demselben Gasgemisch gewonnene Äthanwerte beträchtlich differierten.

Die Kontrolluntersuchungen ergaben, daß zwischen dem in der Zimmerluft und dem in der Exspirationsluft gemessenen Äthangehalt kein signifikanter Unterschied besteht.

Die im Rahmen der Kontrolluntersuchungen durchgeführten Doppelbestimmungen des Äthangehalts der Exspirationsluft weisen z.T. bedeutende Meßwertschwankungen auf.

Die Trinkversuche ergaben keinen Hinweis auf eine durch Äthanol ausgelöste Lipidperoxidation mit daraus resultierender gesteigerter Äthanproduktion.

6. Literaturverzeichnis

Bunyan, J., Murrell, E.A., Green, J. and Diplock, A.T.: On the existence and significance of lipid peroxides in vitamin E-deficient animals. Br. J. Nutr. 21, 475-495 (1967)

Chio, K.S. and Tappel, A.L.: Synthesis and characterization of the fluorescent products derived from malonaldehyde and amino acids. Biochemistry 8, 2821 - 2827 (1969)

Comporti, M., Hartman, A. and Di Luzio, N.R.: Effect of in vivo and in vitro ethanol administration on liver lipid peroxidation. Lab. Invest. 16, 616 - 624 (1967)

Dam, H.: Influence of antioxidants and redox substances on signs of vitamin E deficiency. Pharmacol. Revs. 9, 1 - 16 (1957)

Dillard, C.J., Dumelin, E.E. and Tappel, A.L.: Effect of dietary vitamin E on exspiration of pentane and ethane by the rat. Lipids 12, 109 - 114 (1977)

Di Luzio, N.R.: Prevention of the acute ethanol-induced fatty liver by antioxidants. Physiologist 6, 169 (1963)

Di Luzio, N.R.: A mechanism of the acute ethanol-induced fatty liver and the modification of liver injury by antioxidants. Lab. Invest. 15, 50 - 63 (1966)

Di Luzio, N.R.: The employment of antioxidants in the prevention and treatment of experimentally induced liver injury. Prog. Biochem. Pharmacol. 3, 325 - 346 (1967)

Di Luzio, N.R. and Costales, F.: Inhibition of the ethanol and carbon tetrachloride induced fatty liver by antioxidants. Exptl. Mol. Pathol. 4, 141 - 154 (1965)

Di Luzio, N.R. and Hartman, A.: Role of lipid peroxidation in the pathogenesis of the ethanol-induced fatty liver. Federation Proc. 26, 1436 - 1442 (1967)

Di Luzio, N.R. and Hartman, A.: The effect of ethanol and carbon tetrachloride administration on hepatic lipid-soluble antioxidant activity. Exptl. Mol. Pathol. 11, 38 - 52 (1969)

Dumelin, E.E. and Tappel, A.L.: Hydrocarbon gases produced during in vitro peroxidation of polyunsaturated fatty acids and decomposition of preformed hydroperoxides. Lipids 12, 894 - 900 (1977)

Fleischer, S. and Rouser, G.: Lipids of subcellular particles. J. Am. Oil Chemists Soc. 42, 588 - 607 (1965)

Florey, E.: Lehrbuch der Tierphysiologie, Stuttgart: Thieme 1970

Haase, G. and Dunkley, W.L.: Ascorbic acid and copper in linoleate oxidation.
I. Measurement of oxidation by ultraviolet spectrophotometry and the thiobarbituric acid test. J. Lipid Res. 10, 555 - 560 (1969)

Hafeman, D.G. and Hoekstra, W.G.: Protection against carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation in the rat by dietary vitamin E, selenium, and methionine as measured by ethane evolution. J. Nutr. 107, 656 - 665 (1977 a)

Hafeman, D.G. and Hoekstra, W.G.: Lipid peroxidation in vivo during vitamin E and selenium deficiency in the rat as monitored by ethane evolution. J. Nutr. 107, 666 - 672 (1977 b)

Hashimoto, S. and Recknagel, R.O.: No chemical evidence of hepatic lipid peroxidation in acute ethanol toxicity. Exptl. Mol. Pathol. 8, 225 - 242 (1968)

Heberden, W.: Commentaries on the history and cure of disease. New York: Hafner Publ. Company 1962 (The History of Medicine Series No. 18). Reprint d.Ausgabe London 1802 Darin S. 253

Kalish, G.H. and Di Luzio, N.R.: Peroxidation of liver lipids in the pathogenesis of the ethanol-induced fatty liver. Science 152, 1390 - 1392 (1966)

Köster, U., Albrecht, D. and Kappus, H.: Evidence for carbon tetrachloride-and ethanol-induced lipid peroxidation in vivo demonstrated by ethane production in mice and rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. 41, 639 - 648 (1977)

Köster, U. and Remmer, H.: Ethane production by rats and mice as a parameter of lipid peroxidation in vivo induced by halogenated hydrocarbons and by ethanol. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 297, R 15 (1977)

Lieberman, M. and Hochstein, P.: Ethylene formation in rat liver microsomes. Science 152, 213 - 214 (1966)

Lührs, D.: Untersuchungen zur gaschromatographischen Messung von minimalen Kohlenwasserstoff-Spuren in der menschlichen Ausatemluft. Med. Diss. Tübingen 1980

Machata, G.: Über die gaschromatographische Blutalkoholbestimmung. Blutalkohol 4, 252 - 260 (1967)

Mead, J.F.: Free radical mechanisms of lipid damage and consequences for cellular membranes. In: Free radicals in biology, Vol. I Ed.: Pryor, W.A., New York: Academic Press 1976, S. 51 - 68

Porta, E.A. and Hartroft, W.S.: Effect of vitamin E on ultrastructural changes of the liver in acute ethanol intoxication.
In: Symposia for therapeutic agents in the liver
Ed.: Mc Intyre, N. and Sherlock, S., Oxford: Blackwell Scientific Publications 1965, S. 145 - 165

Porta, E.A., Hartroft, W.S. and De La Iglesia, F.A.: Structural and ultrastructural hepatic lesions associated with acute and chronic alcoholism in man and experimental animals.
In: Biochemical factors in alcoholism
Ed.: Maickel, R.P., New York: Pergamon Press 1967, S. 201 - 238

Recknagel, R.O. and Goshal, A.K.: Lipoperoxidation as a vector in carbon tetrachloride hepatotoxicity. Lab. Invest. 15, 132 - 148 (1966)

Reitz, R.C.: A possible mechanism for the peroxidation of lipids due to chronic ethanol ingestion. Biochem. Biophys. Acta 380, 145 - 154 (1975)

Remmer, H., Albrecht, D. and Kappus, H.: Lipid peroxidation in isolated hepatocytes from rats ingesting ethanol chronically, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 298, 107 - 113 (1977)

Riely, C.A., Cohen, G. and Lieberman, M.: Ethane evolution: A new index of lipid peroxidation. Science 183, 208 - 210 (1974)

Rokitansky, C.A.: Handbuch der pathologischen Anatomie, III. Band, 2. unveränderter Abdruck, Wien: Braumüller und Seidel 1842
Darin S. 311

Rubin, E. and Lieber, C.S.: The effects of ethanol on the liver. Int. Rev. Exp. Pathol. 11, 177 - 232 (1972)

Scheig, R. and Klatskin, G.: Some effects of ethanol and carbon tetrachloride on lipoperoxidation in rat liver. Life Sci. 8, 855 - 865 (1969)

Shin, B.C., Huggins, J.W. and Carraway, K.L.: Effects of pH, concentration and aging on the malonaldehyde reaction with protein. Lipids 7, 229 - 233 (1972)

Slater, T.F.: The role of lipid peroxidation in liver injury.
In: Pathogenesis and mechanisms of liver cell necrosis
Ed.: Keppler, D., Baltimore: University Park Press 1975, S. 209 - 223

Tappel, A.L.: Lipid peroxidation and fluorescent molecular damage to membranes.
In: Pathobiology of cell membranes, Vol. 1
Ed.: Trump, B.F. and Arstila, A.U., New York: Academic Press 1975, S. 145 - 170

Tappel, A.L.: Protection against free radical lipid peroxidation reactions. Adv. Exp. Med. Biol. 97, 111 - 131 (1978)

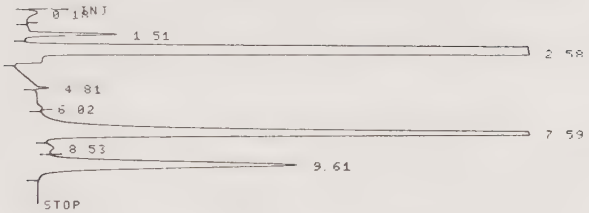
Tappel, A.L. and Zalkin, H.: Inhibition of lipide peroxidation in mitochondria by vitamin E. Arch. Biochem. Biophys. 80, 333 - 336 (1959)

Van Der Waerden, B.L., Nievergelt, E.: Tafeln zum Vergleich zweier Stichproben mittels X-Test und Zeichentest, Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1956

Zalkin, H. and Tappel, A.L.: Studies of the mechanism of vitamin E action. IV. Lipide peroxidation in the vitamin E-deficient rabbit. Arch. Biochem. Biophys. 88, 113 - 117 (1960)

7. Anhang

Abb. 11a

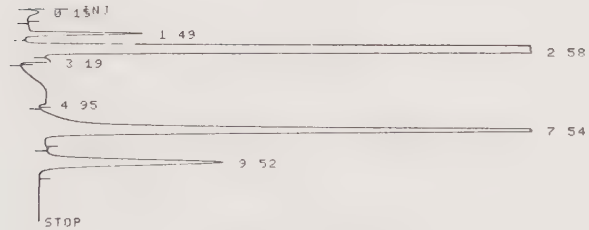


AREA %

RT	TYPE	AREA	
18		3108	262 1
1 51		18551	1 565
2 58	M	767539	64 73
4 81	M	8203	691 8
6 02	M	3946	332 8
7 59		267304	22 54
8 53	M	1854	156 4
9 61		115179	9 714

HP 3380A
DLY OFF STOP 20 REJECT 1000
MV/M .10 ATTN 8

Abb. 11b



AREA %

RT	TYPE	AREA	
15		2966	271 8
1 49		21027	1 927
2 58	M	728352	66 75
3 19	M	10349	948 4
4 95		20637	1 891
7 54		234310	21 47
9 52		73590	6 744

HP 3380A
DLY OFF STOP 20 REJECT 1000
MV/M 10 ATTN 8

Abb. 11a, b: Beispiele zweier Chromatogramme mit gleichzeitigem Ausdruck der vom Integrator für die jeweiligen Peaks ermittelten Flächen in Form von Integrationseinheiten.

Der Äthan-Peak liegt bei einer Retentionszeit von 9,61 min. bzw. 9,52 min.

Lebenslauf

Am 5.12.1950 wurde ich, Gerhard, Wolfgang, Paul Schneider, als Sohn des Verwaltungsbeamten Eugen Schneider und dessen Ehefrau Edith, geb. Braun, in Sindelfingen geboren.

Bis 1952 lebte ich mit meinen Eltern in Döffingen, von wo wir nach Schönaich übersiedelten.

Vom April 1957 bis zum März 1961 besuchte ich hier die Grundschule und vom April 1961 bis zur Reifeprüfung im Juni 1969 das Goldberg-Gymnasium in Sindelfingen.

Ab Oktober 1969 war ich an der Universität Tübingen in den Fächern Biologie und Sport immatrikuliert.

Ab Oktober 1970 studierte ich Biologie mit Studienziel Diplom, im April 1972 legte ich die Vordiplomprüfung ab.

Ab Wintersemester 1974/1975 war ich in den Fächern Biologie und Medizin immatrikuliert.

Im Mai 1976 legte ich die Diplomprüfung in Biologie ab, im August 1976 die Ärztliche Vorprüfung.

Ab Oktober 1976 war ich nur noch im Fach Medizin eingeschrieben.

Im August 1977 bestand ich den ersten Teil der Ärztlichen Prüfung.

Seit dem Sommersemester 1978 arbeitete ich unter der Leitung von Herrn Professor Dr. V. Hempel (Institut für Anaesthesiologie und Transfusionswesen der Universität Tübingen) an meiner Dissertation.

Im August 1980 legte ich den zweiten Teil der Ärztlichen Prüfung ab.

Im Wintersemester 1980/1981 und im Sommersemester 1981 absolvierte ich das "Praktische Jahr" im Kreiskrankenhaus Böblingen.

Die Ärztliche Prüfung legte ich am 26.10.1981 ab, die Approbation als Arzt wurde mir am 6.11.1981 erteilt.

Seit November 1981 arbeite ich als Assistenzarzt in der Abteilung für Anaesthesie des Krankenhauses Sindelfingen.